

**OPTICALLY ACTIVE 4,1-BENZOXAZEPINE DERIVATIVE AND ITS USE****Publication number:** JP7267939**Publication date:** 1995-10-17**Inventor:** YUKIMASA HIDEFUMI; TOZAWA RYUICHI; KORI  
MASAKI; KITANO KAZUAKI**Applicant:** TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD**Classification:****- International:** C12N9/99; A61K31/55; A61P3/06; A61P31/04;  
A61P31/10; A61P43/00; C07D267/14; C12N9/99;  
A61K31/55; A61P3/00; A61P31/00; A61P43/00;  
C07D267/00; (IPC1-7): C07D267/14; A61K31/55;  
C12N9/99; C07M7/00**- European:****Application number:** JP19950018972 19950207**Priority number(s):** JP19950018972 19950207; JP19940015531 19940209**Report a data error here****Abstract of JP7267939**

**PURPOSE:** To provide an optically active 4,1-benzoxazepine derivative expressed by a specific formula, having excellent squalene synthetase inhibiting action and useful as an agent for the prevention and treatment of hypercholesterolemia, an antimycotic agent, etc. **CONSTITUTION:** This benzoxazepine derivative is expressed by formula I (R1 is a lower alkyl; X is H or a metal ion; ring A is a halogen-substituted phenyl; ring B is a lower alkoxy-substituted phenyl), preferably (3R,5S)-7-chloro-5-(2,3-dimethoxyphenyl)-1-neopentyl-2-oxo-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin e-3-acetic acid or its Na salt. The derivative is preferably produced by optically resolving a compound of formula II and optionally dissolving the obtained compound and an alkali metal hydroxide in an alcoholic solvent.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-267939

(43)公開日 平成7年(1995)10月17日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 267/14				
A 6 1 K 31/55	ADN			
	ADZ			
	AED			
C 1 2 N 9/99				

審査請求 未請求 請求項の数19 O L (全 15 頁) 最終頁に続く

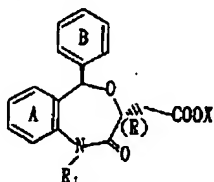
(21)出願番号	特願平7-18972	(71)出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22)出願日	平成7年(1995)2月7日	(72)発明者	行正 秀文 奈良県奈良市紀寺東口町683番地の3
(31)優先権主張番号	特願平6-15531	(72)発明者	兎澤 隆一 大阪府茨木市東奈良1丁目13番18号
(32)優先日	平6(1994)2月9日	(72)発明者	郡 正城 兵庫県三木市志染町青山5丁目20番地の4
(33)優先権主張国	日本 (J P)	(72)発明者	北野 一昭 大阪府堺市赤坂台4丁目15番4号
		(74)代理人	弁理士 岩田 弘 (外5名)

(54)【発明の名称】 光学活性な4, 1-ベンゾオキサゼピン誘導体とその用途

(57)【要約】 (修正有)

【目的】スクアレン合成酵素阻害作用物質およびその製剤の提供。

【構成】式 (I)



(I)

〔式中R<sub>1</sub>は低級アルキル基を、Xは水素または金属イオンを、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシで置換されたフェニル基を示す〕で表わされる光学活性な4, 1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩、それらの製造法及び当該化合物又はその塩を有効成分として含有するスクアレン合成酵素阻害剤。

【効果】式 (I) の化合物はスクアレン合成酵素を阻害することにより血中コレステロール値を低下させるので、虚血性心疾患や冠動脈硬化症の予防・治療に有用で

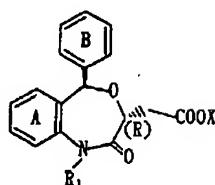
ある。又スクアレン合成酵素を阻害することにより真菌の生育も阻害する。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】式(1)

【化1】



(1)

【式中、R<sub>1</sub>は低級アルキル基を、Xは水素または金属イオンを、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す】で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項2】低級アルキルがイソブチル基またはネオペンチル基である請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項3】金属イオンがナトリウムイオンまたはカリウムイオンである請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項4】ハロゲンが塩素である請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項5】低級アルコキシがメトキシまたはエトキシである請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項6】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

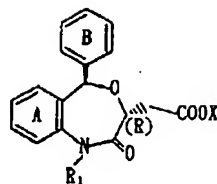
【請求項7】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項8】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩。

【請求項9】式(1)

【化2】

2



(1)

【式中、R<sub>1</sub>は低級アルキル基を、Xは水素または金属イオンを、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す】で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有したスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項10】低級アルキルがイソブチル基またはネオペンチル基である請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項11】金属イオンがナトリウムイオンまたはカリウムイオンである請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項12】ハロゲンが塩素である請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項13】低級アルコキシがメトキシまたはエトキシである請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

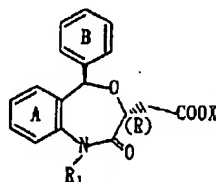
【請求項14】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項15】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項16】(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩である請求項9記載のスクアレン合成酵素阻害剤。

【請求項17】式(1)

【化3】



(1)

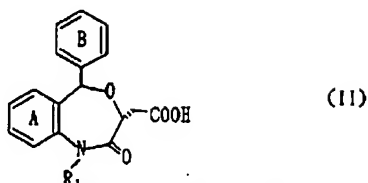
【式中、R<sub>1</sub>は低級アルキル基を、Xは水素または金属イオンを、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す】で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有し

3

てなる抗真菌剤。

【請求項18】式 (II)

【化4】



【式中、R<sub>1</sub>は低級アルキル基を、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す】で表される化合物を光学分割し、必要により得られた化合物とアルカリ金属水酸化物とをアルコール性溶媒に溶解させることを特徴とする請求項1記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩の製造法。

【請求項19】式 (II) で表される化合物を光学活性なアミンと反応させることを特徴とする請求項18記載の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩、及びこれらを有効成分として含有するスクアレン合成酵素阻害剤または抗真菌剤に関する。

【0002】

【従来の技術】高コレステロール血症は、高血圧、喫煙とともに虚血性心疾患の三大危険因子として知られており、血中コレステロール値の適切なコントロールは、この虚血性心疾患の予防又は治療の他に、冠動脈硬化症の予防又は治療に極めて重要である。血中コレステロール値を低下させる薬剤としては、コレステラミン (Cholestyramine)、コレステポール (Colestipol) 等の胆汁酸を捕捉してその吸収を阻害するもの (例えば米国特許第4027009号に開示)、メリナミド (Melinamide) (フランス特許第1476569号に開示) 等のアシルコエンザイムAコレステロールアシル転移酵素 (ACAT) を阻害してコレステロールの腸管吸収を抑制するもの等の他、コレステロールの生合成を抑制する薬剤が目されている。コレステロール生合成抑制剤として、特に3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルコエンザイムA (HMG-CoA) 還元酵素を阻害するロバスタチン (Lovastatin) (米国特許第4231938号に開示)、シンバスタチン (Simvastatin) (米国特許第444784号に開示)、プラバスタチン (Pravastatin) (米国特許第4346227号に開示) 等が医薬に供されている。しかし、HMG-CoA還元酵素を阻害するとコレステロールの生合成以外に、ユビキノ、ドリコールやヘムAの様な、その他の生体に必要な成分の生合成も阻害されるため、それらに起因する副作用が懸

4

念されている。スクアレン合成酵素は、新たなコレステロール生合成経路の必須段階に関与する酵素である。この酵素は、2分子のファルネシルピロリン酸の還元二量化を触媒してスクアレンを形成する酵素である。

【0003】一方、スクアレン合成酵素を阻害することによるコレステロールの生合成阻害が期待される化合物としては、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー、第51(10)巻、第1869~1871頁、1988年 (Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 51, No. 10, 1869~1871 (1988))、特開平1-213288号公報、特開平2-101088号公報、特開平2-235820号公報、特開平2-235821号公報、特開平3-20226号公報、特開平3-68591号公報、特開平3-148288号公報及び米国特許第5,019,390号、米国特許第5,135,935号、WO9215579号、特開平6-9668号、WO9318039号、WO9318040号に開示されている。また、抗真菌剤としては、現在まで種々の化合物が知られているが、スクアレン合成を阻害することによって、抗真菌作用を示す化合物としては、特開平4-279589号、EP475706号、EP494622号、EP503520号に記載されている。4,1-ベンゾオキサゼピン誘導体のうち、2位にケトン基の置換した4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体において、3位の1つの水素原子が他の置換基に置きかわった誘導体が、特開昭57-35576号公報及びケミカル・ファーム・ブル、第34巻、第140頁 (1986) (Chem. Pharm. Bull., 34, 140 (1986)) に開示されている。また、EP567026号公報には、4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体が開示されている。

【0004】

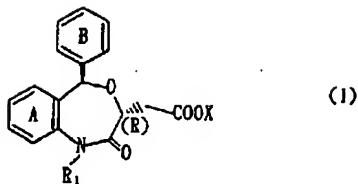
【発明が解決しようとする課題】ユビキノ、ドリコール、ヘムA等は、コレステロール生合成経路上のファルネシルピロリン酸から生合成されることが知られており、従ってこれらの欠損による副作用をなくするためには、コレステロール生合成経路において、ファルネシルピロリン酸以降の酵素系、ことにスクアレン合成酵素を阻害することが望ましい。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記事情に鑑み鋭意研究を重ねた結果、光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体が優れたスクアレン合成酵素阻害作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、(1)式 (I)

【化5】

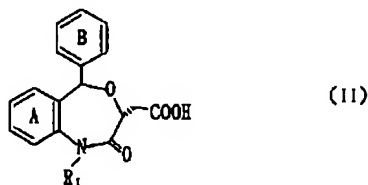
5



〔式中、 $R_1$ は低級アルキル基を、 $X$ は水素または金属イオンを、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す〕で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩、(2)式(I)で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有してなるスクアレン合成酵素阻害剤、(3)式(I)で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有してなる抗真菌剤、

(4)式(II)

【化6】



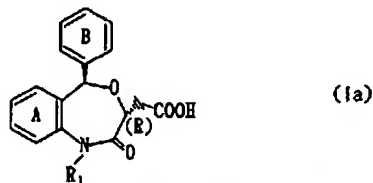
〔式中、 $R_1$ は低級アルキル基を、環Aはハロゲンで置換されたフェニル基を、環Bは低級アルコキシ基で置換されたフェニル基を示す〕で表される化合物を光学分割し、必要により得られた化合物とアルカリ金属水酸化物とをアルコール性溶媒に溶解させることを特徴とする上記(1)記載の光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩の製造法、および(5)式(II)で表される化合物を光学活性なアミンと反応させることを特徴とする上記(4)記載の製造法である。更に本発明は、式(I)で表わされる新規化合物の製造法を提供するものである。本発明の式(I)においては、7員環の面に対して、3位と5位の置換基が逆方向を向いているトランスを示し、(R)はR-配置を示す。

【0006】上記式(I)において、 $R_1$ で示される低級アルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、1-エチルプロピル、ヘキシル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、2-エチルブチル、1-エチルプロピルなどの炭素数1~7個の直鎖状または分枝状の $C_{1-7}$ アルキルが挙げられるが、なかでも炭素数4~5個の $C_{4-5}$ アルキルが好ましく、さらに好ましくはイソブチル、ネオペンチルである。 $X$ で示される金属イオンとしては、ナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオン、アルミニウムイオンなどが挙げられるが、なか

6

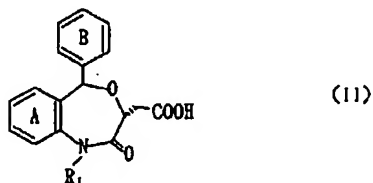
でもナトリウムイオン、カリウムイオンが好ましい。環Aで示されるハロゲンで置換されたフェニル基におけるハロゲンとしては、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素などが挙げられるが、なかでも塩素が好ましい。環Bで示される低級アルコキシ基で置換されたフェニル基における低級アルコキシ基としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ、ベンチルオキシ、イソベンチルオキシ、ネオベンチルオキシ、ヘキシルオキシなどの炭素数1~6個の直鎖状または分枝状の $C_{1-6}$ アルコキシが挙げられるが、なかでも $C_{1-4}$ アルコキシが好ましく、さらに好ましくはメトキシ、エトキシである。本発明の化合物としては、例えば、次のようなものが挙げられる。(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸またはそのナトリウム塩など。式(I)の化合物のうち、式(Ia)

【化7】

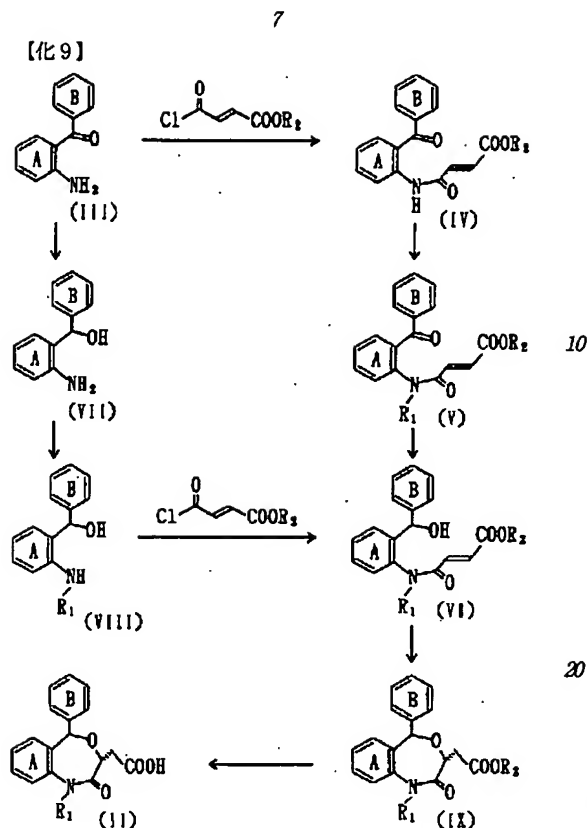


〔式中、 $R_1$ 、環A、環Bは前記と同意義〕で表わされる化合物は、式(II)

【化8】



〔式中、記号は前記と同意義〕で表される化合物を光学分割することによって製造することができる。式(II)で表される化合物は、EP 567026号に記載された以下の方法によって製造することができる。なお、原料となる2-アミノベンゾフェノンは、D. A. Walsh, シンセシス (Synthesis.) 677, 1980年に記載の方法、または該文献に引用された方法、またはそれに準じる方法で合成することができる。



【式中、R<sub>2</sub>は炭素数1～8個のアルキル基又はアラルキル基を示し、他の記号は前記と同意義】。

【0007】式(III)から式(IV)又は式(VIII)から式(VI)への反応は、それ自体公知のアシル化反応を利用して行うことができる。例えば本発明においてアシル化反応は、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル系溶媒、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン系溶媒、ベンゼン、トルエン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素系溶媒、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等の溶媒中、必要により水及び塩基（例えば、4-ジメチルアミノピリジン、トリエチルアミン、トリエチレンジアミン、テトラメチルエチレンジアミン等の有機塩基や、例えば炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等の無機塩基、水素化ナトリウム、水素化カリウム等の存在下に行なうことができる。式(III)または(VIII)で表わされる化合物1モルに対して、塩化フマル酸モノアルキルエステルまたはアラルキルエステルは通常1～10モル量、好ましくは1～3モル量程度用いられる。また反応時間は、通常約1～48時間、好ましくは5～10時間程度である。反応温度は-50～100℃、好ましくは0～50℃程度である。式(III)から式(VII)又は式(V)から式(VI)への反応は、プロトン性溶媒（例えば、メタノール、エ

タノール、プロパノール、ブタノール等）、もしくは非プロトン性溶媒（例えば、エチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等）の溶媒中、金属水素錯化合物（例えば、水素化アルミニウムリチウム、水素化アルミニウムナトリウム、水素化トリエトキシアルミニウムナトリウム、水素化ホウ素ナトリウム等）で処理することにより製造することができる。このような金属水素錯化合物は、式(III)または式(V)で示される化合物1モルに対し、通常0.3～5モル当量、好ましくは0.5～2モル当量用いる。反応温度は-20～100℃、好ましくは20～50℃の温度である。

【0008】式(VII)から式(VIII)又は式(IV)から式(V)への反応は、例えばジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル系溶媒、ベンゼン、トルエン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素系溶媒、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール系溶媒、アセトン、ジメチルホルムアミド溶媒中、必要により塩基（例えば、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム等）の存在下、式(VII)、式(IV)で示される化合物とハロゲン化アルキル（例えば、塩化ネオペンチル、臭化ネオペンチル、ヨウ化ネオペンチル、塩化イソブチル、臭化イソブチル、ヨウ化イソブチル等）とを反応させることにより製造することができる。式(VII)または式(IV)で表わされる化合物1モルに対して、ハロゲン化アルキルは、通常1～10モル量、好ましくは1～2モル量程度用いる。反応温度は0～100℃、好ましくは20～50℃程度である。反応時間は通常1～24時間、好ましくは3～10時間程度である。また式(VII)から式(VIII)への反応は、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル系溶媒、ベンゼン、トルエン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素系溶媒、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール系溶媒中、式(VII)で示される化合物とトリメチルアセトアルデヒド、イソブチルアルデヒドとの間で接触還元法や、水素化ホウ素ナトリウムやシアノ水素化ホウ素ナトリウムを用いて還元アミノ化することによって製造することができる。式(VII)で示される化合物1モルに対し、アルデヒドは通常1～10モル量、好ましくは1～2モル量、還元剤は0.3～5モル量、好ましくは0.5～1モル量用いる。反応温度は0～100℃、好ましくは10～30℃である。反応時間は通常1～24時間、好ましくは3～10時間程度である。

【0009】式(VI)から式(IX)の反応は、例えば、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル系溶媒、ベンゼン、トルエン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素系溶媒、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール系溶媒、アセトン、ジメチルホルムアミド等の溶媒中、必要により塩

基（例えば、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム等）の存在下に行なうことができる。式

(VI) で表わされる化合物1モルに対して、これら塩基は通常1～5モル、好ましくは1～2モル程度用いる。反応温度は通常-20～200℃、好ましくは20～100℃である。反応時間は通常1～20時間、好ましくは2～5時間である。式 (IX) から式 (II) の反応は、例えば、式 (IX) で示される化合物を酸又は塩基で処理することにより製造することができる。すなわち式 (IX) で表わされる化合物を、<sup>10</sup> 銺酸（例えば、硝酸、塩酸、臭化水素酸、ヨウ素酸、硫酸等）又はアルカリ金属水酸化物（例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化バリウム、水酸化リチウム等）の水溶液中、0～150℃、好ましくは20～50℃で行なうことができる。酸及び塩基の強さとしては、1～10規定前後がよく、好ましくは4～10規定である。反応時間は、反応温度にもよるが、通常1～24時間、好ましくは2～10時間程度である。

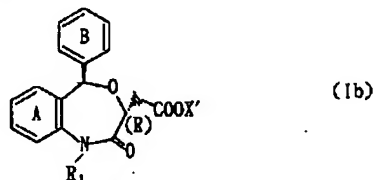
【0010】式 (II) で示された化合物を光学分割する方法としては、例えば、式 (II) で示される化合物と、光学活性なアミン、例えば、カルボン酸が炭素数1～8のアルキル又はアラルキル基でエステル化されたアミノ酸（例えばアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、スレオニン、リジン、フェニルアラニン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、メチオニン等）とを反応させアミド結合を生成させた後、蒸留、再結晶、カラムクロマトグラフィー等を用い光学異性体を分離精製し、その後、アミド結合を再度切断することによって、目的物 (Ia) <sup>30</sup> を製造することができる。アミド結合を生成するには、式 (II) で示される化合物と、エステル化されたアミノ酸とを、溶媒中必要であれば塩基存在下、縮合剤を用いることにより製造することができる。用いる溶媒としては、ベンゼン、トルエン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素系溶媒、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン系溶媒、エチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル系溶媒、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド等が挙げられる。塩基としては、トリエチルアミン、4-ジメチルアミノピリジン、トリエチレンジアミン、テトラメチルエチレンジアミン等が用いられる。縮合剤としては、ペプチド合成に用いられる縮合剤が挙げられ、例えばジシクロヘキシルカルボジイミド、シアノりん酸ジエチル、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド等が挙げられる。式 (II) で示される化合物1モルに対し、エステル化されたアミノ酸は0.5～2モル当量、好ましくは1～1.2モル当量用い、縮合剤は0.5～5モル当量、好ましくは1～2モル当量用いる。反応温度は0～100℃、好ましくは20～50 <sup>50</sup>

℃、反応時間は0.5～24時間、好ましくは1～5時間程度である。

【0011】アミド結合を切断する方法としては、水、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等の溶媒中、アルカリ金属水酸化物（例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化バリウム、水酸化リチウム等）や、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムの存在下、又は銺酸（例えば、硝酸、塩酸、臭化水素酸、ヨウ素酸、硫酸等）の存在下10～150℃、好ましくは10～50℃で行なうことができる。反応時間は反応温度にもよるが、通常1～24時間、好ましくは2～10時間程度である。また、式 (II) で表される化合物は、光学活性なアミン（例、キニーネ、シンコニジン、ブルシン、デヒドロアピエチルアミン、ニコチンなど）と塩を形成した後、分別結晶することにより、目的物 (Ia) を製造することができる。また、式 (Ia) で表される化合物は、式 (VI) または式 (VIII) で示される化合物を光学分割してから製造することもできる。

【0012】式 (I) の化合物のうち、式 (Ib)

【化10】



【式中、X' は金属イオンを示し、他は前記と同意義】  
で表わされる化合物は、式 (Ia) で示される化合物と、等モルのアルカリ金属水酸化物（例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなど）とをメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール性溶媒に溶解させることにより製造することができる。本発明の一般式 (I) で表わされる化合物は、スクアレン合成酵素阻害作用を有するが、本発明で使用される化合物の中には、コレステロール生合成経路の他の酵素をも抑制するものもある。いずれにしても本発明の一般式 (I) で表わされる化合物は、コレステロール生合成を抑制するので、哺乳動物（例、マウス、ラット、ウサギ、犬、ネコ、牛、豚、ヒト等）の高コレステロール血症や冠動脈硬化症の予防又は治療に有用である。かかる化合物を人に投与する場合、投与方法は経口的、非経口的いずれのルートによってもよい。経口投与のための組成物としては、固体又は液体の剤形、具体的には錠剤（糖衣錠、フィルムコーティング錠を含む）、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤を含む）、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等が挙げられる。かかる組成物は自体公知の方法によって製造でき、製剤分野において通常用いられる担体もしくは賦形剤を含有するものである。例えば、錠剤用の担体もしくは賦形剤としては、乳糖、でん

11

ぶん、蔗糖、ステアリン酸マグネシウム等が挙げられる。

【0013】非経口投与のための組成物としては、例えば、注射剤、坐剤等が挙げられ、注射剤は皮下注射剤、皮内注射剤、筋肉注射剤等の剤形を包含する。かかる注射剤はそれ自体公知の方法、すなわち本発明の化合物を通常注射剤に用いられる無菌の水性もしくは油性液に懸濁又は乳化することによって調製される。注射用の水性液としては生理食塩水、等張液等が挙げられ、必要により適当な懸濁化剤、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、非イオン性界面活性剤等と併用してもよい。油性液としてはゴマ油、大豆油等が挙げられ、溶解補助剤としては安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等を併用してもよい。調製された注射液は通常適当なアンプルに充填される。一般式(I)で表わされる化合物又はその塩は、低毒性で安全に使用することができ、その1日の投与量は患者の状態や体重、化合物の種類、投与経路等によって異なるが、例えば、高コレステロール血症治療剤として使用する場合、成人1日当たりの投与量は、経口投与の場合、約1~500mg、好ましくは約10~200mgであり、非経口投与(例、注射剤、坐剤など)の場合、約0.1~100mg、好ましくは1~20mgであり、この範囲では何ら毒性は見られない。さらに、一般式(I)で表される化合物は、プロスまたは寒天希釈法によって決定されるように広範囲の抗菌活性を示す。一般式(I)で表される化合物は、真菌治療の目的で哺乳動物(例、ヒトなど)に投与される場合、成人1日あたりの有効な投与量は、経口投与の場合、約0.1~100mg、好ましくは約1~50mgであり、非経口投与(例、注射剤、坐剤など)の場合、約0.1~100mg、好ましくは1~50mgである。また、真菌感染を治療する目的で使用する場合、単位投与量として一般に2~5mg/kgを使用すればよい。

【0014】

【実施例】以下実施例、製剤例、試験例を示して、本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されないことはいうまでもない。

#### 実施例1

(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(I)および(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(II)

(1) N-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル ] -L-アラニン tert-ブチルエステルおよびN-[ (3R, 5S)-7-クロロ

12

-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル] -L-アラニン tert-ブチルエステル

トランス-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(3.0g)とL-アラニン tert-ブチルエステル塩酸塩(1.51g)のジメチルホルムアミド(20ml)溶液を0°Cに冷却し、シアノりん酸ジエチル(1.43g)とトリエチルアミン(2.42ml)を加えた。30分間室温で攪拌したのち、反応液を水で希釈し、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出した。抽出液を1規定塩酸(20ml×2)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(20ml×2)で洗浄したのち、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除き、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒:ヘキサン、酢酸エチルエステル=3:1-1:1)で分離精製し、第1留分としてN-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル ] -L-アラニン tert-ブチルエステル、無色結晶1.55g(融点94-97°C)を得た。

元素分析値 C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>として

計算値 C, 64.55; H, 7.03; N, 5.01

実験値 C, 64.05; H, 7.27; N, 4.72

第2留分としてN-[ (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル ] -L-アラニン tert-ブチルエステル、油状化合物1.8gを得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.93 (9H, s), 1.35 (3H, d, J=7.0Hz), 1.45 (9H, s), 2.69 (1H, dd, J=14.6, 5.7Hz), 2.87 (1H, dd, J=14.4, 7.2Hz), 3.34 (1H, d, J=14.0Hz), 3.62 (3H, s), 4.3-4.5 (2H, m), 4.49 (1H, d, J=14.0Hz), 6.27 (1H, s), 6.3-6.4 (1H, brd), 6.6-6.7 (1H, m), 6.8-7.7 (6H, m)

【0015】(2) N-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル ] -L-アラニン

(1) で得たN-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル ] -L-アラニン tert-ブチルエステル(1.4g)を4規定塩化水素のジ

オキサン溶液(20ml)に溶かし、室温で5時間攪拌した。反応液を水(50ml)で希釈し、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去することにより非結晶性固体N-[ (3S, 5R) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン(1.20g)を得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.93 (9H, s), 1.44 (3H, d,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 2.71 (1H, dd,  $J=14.4$ , 5.5Hz), 2.93 (1H, dd,  $J=14.4$ , 7.6Hz), 3.35 (1H, d,  $J=13.9\text{Hz}$ ), 3.63 (3H, s), 4.3-4.4 (1H, m), 4.4-4.6 (2H, m), 6.27 (1H, s), 6.63 (1H, d,  $J=1.9\text{Hz}$ ), 6.71 (1H, brd,  $J=6.8\text{Hz}$ ), 6.8-7.7 (6H, m)

元素分析値  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_6$ として

計算値 C, 62.09; H, 6.21; N, 5.57

実験値 C, 62.38; H, 6.51; N, 5.34

【0016】(3) N-[ (3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン

(1)で得たN-[ (3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン 1.8gを(2)と同様な操作により非結晶性固体N-[ (3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン(1.35g)を得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.93 (9H, s), 1.43 (3H, d,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 2.73 (1H, dd,  $J=14.6$ , 5.8Hz), 2.89 (1H, dd,  $J=14.6$ , 5.8Hz), 3.35 (1H, d,  $J=14.0\text{Hz}$ ), 3.63 (3H, s), 4.38 (1H, t,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 4.45-4.6 (2H, m), 6.28 (1H, s), 6.55 (1H, brd,  $J=6.8\text{Hz}$ ), 6.64 (1H, d,  $J=2.0\text{Hz}$ ), 6.8-7.7 (6H, m)

元素分析値  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_6$ として

計算値 C, 62.09; H, 6.21; N, 5.57

実験値 C, 61.96; H, 6.23; N, 5.38

【0017】(4) (3S, 5R) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オ

キソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(I)

(2)で得たN-[ (3S, 5R) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン(1.0g)のメタノール(10ml)溶液に濃塩酸(10ml)を加え、24時間加熱還流させた。反応液を水で希釈し、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出した。

抽出液を水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去した。残留物のジメチルホルムアミド(20ml)溶液に、ヨウ化メチル(0.19ml)、炭酸カリウム(0.55g)を加え、室温で1時間攪拌した。反応液を水で希釈し、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出した。抽出液を1規定塩酸(20ml $\times$ 2)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(20ml $\times$ 2)で洗浄したのち、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除き、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒、ヘキサン:酢酸エチルエステル=3:1で分離精製し、(3S, 5R) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸メチルエステル(0.51g)を得た。これを水(10ml)とメタノール(10ml)の混合溶媒に溶かし、炭酸カリウム(0.32g)を加え2.5時間加熱還流した。反応液を1規定塩酸(20ml)で酸性にし、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除き、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒、ヘキサン:酢酸エチルエステル=2:1-ジクロロメタン:メタノール=2:1)で分離精製し無色結晶の(3S, 5R) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸0.46g(融点、179-183°C)を得た。

$[\alpha]_D^{25} +248.7^\circ$  ( $c=0.45$ , MeOH)

元素分析値  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClN}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C, 61.40; H, 6.27; N, 3.11

実験値 C, 61.12; H, 5.99; N, 3.28

【0018】(5) (3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(II)

(3)で得たN-[ (3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン(1.0g)を(4)と同様な操作により無色結晶の(3R, 5S) -7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1

ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 0.3 g (融点、176-180°C) を得た。

$[\alpha]_D^{25} -246.2^\circ$  ( $c=0.42$ , MeOH)

元素分析値  $C_{23}H_{26}ClNO_6 \cdot 1.5H_2O$  として

計算値 C, 60.19; H, 6.37; N, 3.05

実験値 C, 60.05; H, 5.88; N, 3.22

#### 【0019】実施例2

(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (I) および (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (II) トランス-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸を用い、実施例1と同様にして合成した。

【0020】(1) N-[(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン tert-ブチルエステル

無色結晶 (融点、120-122°C)

元素分析値  $C_{31}H_{41}ClN_2O_7 \cdot 0.5H_2O$  として

計算値 C, 62.25; H, 7.08; N, 4.68

実験値 C, 62.45; H, 6.89; N, 4.68

(2) N-[(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン tert-ブチルエステル

無色結晶 (融点、136-137°C)

元素分析値  $C_{31}H_{41}ClN_2O_7 \cdot 0.8H_2O$  として

計算値 C, 61.69; H, 7.11; N, 4.64

実験値 C, 61.60; H, 7.45; N, 4.58

(3) N-[(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン

無色結晶 (融点、182-185°C)

元素分析値  $C_{27}H_{33}ClN_2O_7$  として

計算値 C, 60.84; H, 6.24; N, 5.26

実験値 C, 60.78; H, 6.09; N, 4.99

【0021】(4) N-[(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ア

ラニン

無色結晶 (融点、137-140°C)

元素分析値  $C_{27}H_{33}ClN_2O_7 \cdot 0.3C_6H_{14} \cdot 0.3H_2O$  として

計算値 C, 61.11; H, 6.77; N, 4.95

実験値 C, 61.21; H, 6.91; N, 5.05

(5) (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (I)

無色結晶 (融点、227-230°C)

$[\alpha]_D^{25} +242.7^\circ$  ( $c=0.41$ , MeOH)

元素分析値  $C_{24}H_{28}ClNO_6 \cdot 0.5H_2O$  として

計算値 C, 61.21; H, 6.21; N, 2.97

実験値 C, 61.20; H, 6.07; N, 2.91

(6) (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (II)

無色結晶 (融点、218-222°C)

$[\alpha]_D^{25} -246.8^\circ$  ( $c=0.43$ , MeOH)

元素分析値  $C_{24}H_{28}ClNO_6 \cdot 0.75H_2O$  として

計算値 C, 60.63; H, 6.25; N, 2.95

実験値 C, 60.58; H, 6.05; N, 2.95

#### 【0022】実施例3

(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (I) および (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (II)

(1) N-[(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン メチルエステルおよび N-[(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン メチルエステル

トランス-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (11.0 g) と L-ロイシン メチルエステル塩酸塩 (5.2 g) のジメチルホルムアミド (50 ml) 溶液を 0°C に冷却し、シアノりん酸ジエチル (4.9 g) とトリエチルアミン (8.3 ml) を加え

た。30分間室温で撹拌したのち、反応液を水(200 ml)で希釈し、酢酸エチルエステル(300 ml)で抽出した。抽出液を1規定塩酸(100 ml×2)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(100 ml×2)で洗浄したのち、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除き、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒、ヘキサン:酢酸エチルエステル=2:1-1:1)で分離精製し、第1留分としてN-[ (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン メチルエステル、無色結晶 6.7 g (融点 93-96°C)を得た。

元素分析値  $C_{31}H_{41}ClN_2O_7 \cdot 0.5H_2O$  として  
計算値 C, 62.25; H, 7.08; N, 4.68  
実験値 C, 62.38; H, 7.42; N, 4.43  
第2留分としてN-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン  
メチルエステル、油状化合物 6.5 gを得た。

$^1H$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.8-1.1 (15 H, m), 1.5-1.75 (1 H, m), 2.70 (1 H, dd, J=14.4, 6.0 Hz), 2.88 (1 H, dd, J=14.4, 6.6 Hz), 3.35 (1 H, d, J=14.0 Hz), 3.60 (3 H, s), 3.71 (3 H, s), 3.86 (3 H, s), 4.33 (1 H, t, J=6.2 Hz), 4.51 (1 H, d, J=14.0 Hz), 4.5-4.7 (1 H, m), 6.21 (1 H, m), 6.45-6.7 (4 H, m), 7.2-7.6 (3 H, m)。

【0023】(2) (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (I)

(1)で得たN-[ (3S, 5R)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン メチルエステル (1.0 g) のメタノール (20 ml) 溶液に濃硫酸 (4 ml) を加え、24時間加熱還流させた。反応液を水で希釈し、酢酸エチルエステル (50 ml) で抽出した。抽出液を水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒、ヘキサン:酢酸エチルエステル=5:1で分離精製し、(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 メチルエステル (0.22 g) を得た。これを水 (10 ml) 10

1) とメタノール (10 ml) とテトラヒドロフラン (5 ml) の混合溶媒に溶かし、炭酸カリウム (0.13 g) を加え2時間加熱還流した。反応液を1規定塩酸で酸性にし、酢酸エチルエステルで抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除くことにより、(3S, 5R)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸の無色結晶 0.20 g (融点、233-234°C) を得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup> +228.1° (c=0.51, MeOH)

元素分析値  $C_{24}H_{28}ClNO_6$  として

計算値 C, 62.40; H, 6.11; N, 3.03

実験値 C, 62.28; H, 6.41; N, 2.89

【0024】(3) (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (II)

(1)で得たN-[ (3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-ロイシン メチルエステル (6.0 g) を(2)と同様な操作により無色結晶の(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2,4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 0.7 g (融点、234-235°C) を得た。

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -232.5° (c=0.41, MeOH)

元素分析値  $C_{24}H_{28}ClNO_6$  として

計算値 C, 62.40; H, 6.11; N, 3.03

実験値 C, 62.39; H, 6.20; N, 2.81

【0025】実施例4

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩

実施例1で得た、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (12 g) をメタノール (250 ml) に懸濁し、1規定水酸化ナトリウム水溶液 (27.7 ml) を加えて溶解させた。溶媒を減圧留去したのち、残留物に酢酸エチルエステル (200 ml) を加えて減圧留去した。再度この操作を行ったのち、析出した結晶に酢酸エチルエステルを加えて濾取して、

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1,2,3,5-テトラヒドロ-4,1-ベンゾオキサゼピン-3-

19

酢酸 ナトリウム塩の無色結晶11.8g (融点  $>300^{\circ}\text{C}$ )を得た。

$[\alpha]_D^{22} -263.6^{\circ}$  ( $c=0.64$ , MeOH)

元素分析値  $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{ClINO}_5\text{Na} \cdot 0.75\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C, 59.10; H, 5.71; N, 3.00

実験値 C, 59.27; H, 5.97; N, 2.75

#### 【0026】実施例5

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (30g) を実施例4と同様の操作により、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 3-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩の無色結晶31.9g (融点 $>300^{\circ}\text{C}$ )を得た。

$[\alpha]_D^{23} -235.1^{\circ}$  ( $c=0.60$ , MeOH)

元素分析値  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClINO}_5\text{Na} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C, 56.42; H, 5.92; N, 2.74

実験値 C, 56.49; H, 6.02; N, 2.75

#### 【0027】実施例6

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 (24g) を実施例4と同様の操作により、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2, 4-ジメトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩の無色結晶24.7g (融点  $>300^{\circ}\text{C}$ )を得た。

$[\alpha]_D^{23} -231.1^{\circ}$  ( $c=0.70$ , MeOH)

元素分析値  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClINO}_5\text{Na} \cdot 0.75\text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C, 57.95; H, 5.78; N, 2.82

実験値 C, 57.86; H, 6.08; N, 2.81

#### 【0028】実施例7

トランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メト

20

キシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸

(1) 2-アミノ-4'-ベンジルオキシ-5-クロロ-2'-メトキシベンゾフェノン

4-ブロモ-3-メトキシフェノール (21g)、臭化ベンジル (13.5ml)、炭酸カリウム (21.4g) とアセトン (200ml) の混合物を室温で24時間攪拌した。不溶物を濾過して除去し、濾液を減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒、ヘキサン: 酢酸エチルエステル=20:1) で精製して4-ベンジルオキシ-2-メトキシプロモベンゼン (25g) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.85 (3H, s), 5.04 (2H, s), 5.04 (2H, s), 6.47 (1H, dd,  $J=8.6, 2.6\text{Hz}$ ), 6.57 (1H, d,  $J=2.6\text{Hz}$ ), 7.3-7.5 (8H, m). 本化合物を出発原料として, L. H. Sternbachら, J. Org. Chem., 27, 378 (1962) に記載された方法に従って, 2-アミノ-4'-ベンジルオキシ-5-クロロ-2'-メトキシベンゾフェノン 20.4g の淡黄色結晶 (融点  $97-98^{\circ}\text{C}$ ) を得た。

元素分析値  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClINO}_3$  として

計算値: C, 68.57; H, 4.93; N, 3.81

実験値: C, 68.62; H, 5.09; N, 3.65

【0029】(2) 2-アミノ- $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-5-クロロベンジルアルコール

2-アミノ-4'-ベンジルオキシ-5-クロロ-2'-メトキシベンゾフェノン (10g) のメタノール (100ml) 溶液に水素化ほう素ナトリウム (1.4g) を加えて24時間攪拌した。溶媒を減圧留去したのち、水 (200ml) を加え、酢酸エチルエステル (300ml) で抽出した。抽出液を水洗、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒、ヘキサン: 酢酸エチルエステル=4:1-2:1) で精製して、2-アミノ- $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-5-クロロベンジルアルコール 9.5g を無色結晶 (融点  $101-103^{\circ}\text{C}$ ) として得た。

元素分析値  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{ClINO}_3$  として

計算値: C, 68.20; H, 5.41; N, 3.79

実験値: C, 67.97; H, 5.42; N, 3.58

【0030】(3)  $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-2-ネオペンチルアミノ-5-クロロベンジルアルコール

2-アミノ- $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-5-クロロベンジルアルコール (9.5g)、ピバルアルデヒド (3.35ml)、酢酸 (1.

85 g) のエタノール (200 ml) 溶液を室温で30分間撹拌した後、シアノ水素化ほう素ナトリウム (2.33 g) を加えて24時間撹拌した。溶媒を減圧留去したのち、水 (200 ml) を加え、酢酸エチルエステル (200 ml) で抽出した。抽出液を水洗、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒、ヘキサン: 酢酸エチルエステル=5:1) で精製して、 $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-2-ネオペンチルアミノ-5-クロロベンジル アルコール (10 g) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.91 (9H, s), 2.82 (2H, s), 3.10 (1H, br), 3.85 (3H, s), 4.75 (1H, br), 5.06 (2H, s), 5.94 (1H, s), 6.45-6.7 (3H, m), 6.95-7.5 (7H, m).

【0031】(4) 3-[N-[4-クロロ-2-(4-ベンジルオキシ- $\alpha$ -ヒドロキシ-2-メトキシベンジル)フェニル]-N-ネオペンチルカルバモイル]アクリル酸 エチルエステル  
 $\alpha$ -(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-2-ネオペンチルアミノ-5-クロロベンジル アルコール (10 g) のジクロロメタン (200 ml) 溶液に、炭酸水素ナトリウム (6.3 g) を加え、撹拌しながらフマル酸クロリドモノエチルエステル (4.43 g) を滴下した。室温で30分間撹拌した後、反応液を水洗し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒、ヘキサン: 酢酸エチルエステル=5:1) で精製して、3-[N-[4-クロロ-2-(4-ベンジルオキシ- $\alpha$ -ヒドロキシ-2-メトキシベンジル)フェニル]-N-ネオペンチルカルバモイル]アクリル酸 エチルエステル (12 g) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.7-1.0 (9H, m), 1.1-1.3 (3H, m), 2.5-3.15 (2H, m), 3.69, 3.77 (3H, each s), 3.9-4.5 (3H, m), 4.95, 5.07 (2H, each s), 5.9-6.85 (5H, m), 6.95-7.9 (10H, m).

【0032】(5) トランス-7-クロロ-5-(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル

3-[N-[4-クロロ-2-(4-ベンジルオキシ- $\alpha$ -ヒドロキシ-2-メトキシベンジル)フェニル]-N-ネオペンチルカルバモイル]アクリル酸エチルエステル (12 g) をエタノール (150 ml) に溶解し、

炭酸カリウム (5.9 g) を加えて24時間撹拌した。

溶媒を減圧留去し、水 (200 ml) を加え、酢酸エチルエステル (200 ml) で抽出した。抽出液を水洗、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒、ヘキサン: 酢酸エチルエステル=3:1) で精製して、トランス-7-クロロ-5-(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル 9.8 g を無色結晶 (融点130-131°C) として得た。

元素分析値  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClNO}_6$  として

計算値: C, 67.90; H, 6.41; N, 2.47  
 実験値: C, 67.73; H, 6.35; N, 2.33.

【0033】(6) トランス-7-クロロ-5-(4-ヒドロキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル

トランス-7-クロロ-5-(4-ベンジルオキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル (7.0 g) を酢酸エチルエステル (150 ml) に溶解し、1規定塩酸 (0.1 ml) と10% パラジウム炭素 (50%含水, 1.0 g) を加えて常温常圧下に接触還元した。計算量の水素を吸収させた後、パラジウム炭素を濾去し、濾液を減圧留去して、トランス-7-クロロ-5-(4-ヒドロキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル 5.6 g を無色結晶 (融点197-199°C) として得た。

元素分析値  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{ClNO}_6$  として

計算値: C, 63.09; H, 6.35; N, 2.94  
 実験値: C, 62.97; H, 6.57; N, 2.81.

【0034】(7) トランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル  
 トランス-7-クロロ-5-(4-ヒドロキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル (0.25 g)、よう化エチル (0.06 ml)、炭酸カリウム (0.15 g) とN,N-ジメチルホルムアミド (20 ml) の混合物を室温で3時間撹拌した。反応液を水 (50 ml) で希釈し、酢酸エチルエステル (100 ml) で抽

出した。抽出液を1規定塩酸(30ml×2)と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去してトランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル0.24gを無色結晶(融点164-166℃)として得た。

元素分析値  $C_{27}H_{34}ClNO_6$  として

計算値: C, 64.34; H, 6.80; N, 2.78 10

実験値: C, 64.18; H, 6.70; N, 2.74.

【0035】(8) トランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸

トランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 エチルエステル(0.18g)、炭酸カリウム(0.1g)、メタノール(10ml)、テトラヒドロフラン(10ml)と水(5ml)を1.5時間加熱還流した。反応液を減圧濃縮し、1規定塩酸(50ml)を加え、酢酸エチルエステル(50ml)で抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧留去してトランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸0.15gを無色結晶(融点230-232℃)として得た。

元素分析値  $C_{27}H_{34}ClNO_6$  として

計算値: C, 63.09; H, 6.35; N, 2.94

実験値: C, 62.92; H, 6.60; N, 3.01

【0036】実施例8

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸

トランス-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(2.2g)を実施例1と同様にし、L-アラニン tert-ブチルエステルと反応させ、生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離精製して、N-[(3S, 5R)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン tert-ブチルエステル(1.0g)とN-[(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メ 50

トキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン tert-ブチルエステル(1.1g)を得た。N-[(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-アセチル]-L-アラニン tert-ブチルエステル(0.8g)を実施例1(2)と同様の方法で反応させて、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸0.33gを無色結晶(融点162-165℃)として得た。

元素分析値  $C_{27}H_{34}ClNO_6$  として

計算値: C, 63.09; H, 6.35; N, 2.94

実験値: C, 62.87; H, 6.23; N, 2.66.

$[\alpha]_D^{25} -212.0^\circ$  (c=0.94, MeOH).

【0037】実施例9

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(3.65g)を実施例4と同様の操作により、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(4-エトキシ-2-メトキシフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩3.54gの無色結晶(230-250℃、分解)を得た。

元素分析値  $C_{27}H_{34}ClNO_6 \cdot Na \cdot 0.7H_2O$  として

計算値: C, 58.81; H, 6.00; N, 2.74

実験値: C, 58.91; H, 6.24; N, 2.71.

$[\alpha]_D^{25} -218.8^\circ$  (c=0.48, MeOH).

【0038】参考例1

(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-クロロフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩

EP567026号の実施例118に記載の(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-クロロフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸(1.2

g)を実施例4と同様の操作により、(3R, 5S)-7-クロロ-5-(2-クロロフェニル)-1-ネオペンチル-2-オキソ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロ-4, 1-ベンゾオキサゼピン-3-酢酸 ナトリウム塩の無色結晶1.1g (融点 $>300^{\circ}\text{C}$ )を得た。

$[\alpha]_D^{25} -237.1^{\circ}$  ( $c=0.57$ , MeOH)

元素分析値  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NO}_4\text{Na} \cdot \text{H}_2\text{O}$ として

計算値 C, 55.47; H, 5.08; N, 2.94

実験値 C, 55.41; H, 5.26; N, 2.83

#### 【0039】スクアレン合成酵素阻害活性の測定法

スクアレン合成酵素阻害活性は後述の実験例1及び実験例2で示した酵素液を使用して次のように測定される。

すなわち、 $5\mu\text{M}$  ( $10^{-3}\text{H}$ ) ファルネシルピロリン酸 (比活性 $25\mu\text{Ci}/\text{mole}$ )、 $1\text{mM}$ のNADPH (還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリジン酸)、 $5\text{mM}$ の $\text{MgCl}_2$ 、 $6\text{mM}$ のグルタチオン、 $100\text{mM}$ のリン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) 及び被験薬剤 (水溶液又はDMSO溶液として添加) を含む溶液 (全量 $50\mu\text{l}$ ) に、実験例1及び実験例2で調製した酵素液 (蛋白量 $0.8\mu\text{g}$ ) を添加し、 $37^{\circ}\text{C}$ で45分間反応させる。

$150\mu\text{l}$ のクロロホルム・メタノール (1:2) 混液を添加して反応を停止させ、ついで $50\mu\text{l}$ のクロロホルム及び $50\mu\text{l}$ の3N水酸化ナトリウム溶液を添加する。スクアレンを主成分とした反応生成物を含むクロロホルム層 (下層)  $50\mu\text{l}$ とトルエン系液体シンチレータ $3\text{ml}$ を混合し、液体シンチレーションカウンターでその放射活性を測定する。スクアレン合成酵素阻害活性は、クロロホルム層へ取り込まれる放射活性を50%\*

スクアレン合成酵素阻害活性 (in vitro)

\*阻害する濃度 ( $\text{IC}_{50}$ 、モル濃度 (M)) で示した。

#### 【0040】実験例1 ラット酵素の調製

SD系雄性ラット (6週令) を放血致死させた後、肝臓を摘出する。肝臓約 $10\text{g}$ を氷冷生理食塩水で洗浄後、 $15\text{ml}$ 氷冷緩衝液 [ $100\text{mM}$ リン酸カリウム (pH 7.4)、 $15\text{mM}$ ニコチンアミド、 $2\text{mM}$ の $\text{MgCl}_2$ ] 中でホモジナイズし、 $10000\times\text{g}$ で20分間 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 遠心分離する。得られた上清をさらに $105000\times\text{g}$ で90分間 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 遠心分離し、次いで沈査を氷冷 $100\text{mM}$ リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) に懸濁後、再度 $105000\times\text{g}$ で90分間 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 遠心分離する。このようにして得られた沈査 (ミクロソーム画分) を氷冷 $100\text{mM}$ リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) に懸濁 (蛋白濃度約 $40\text{mg}/\text{ml}$ 、ピエス社BCAプロテインアッセイキットで測定) し、これを酵素液とした。

#### 【0041】実験例2 ヒト酵素の調製

$10\%$ 牛胎児血清を含むダルベッコ改良イーグル培地で培養 ( $37^{\circ}\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 存在下) し、得られたヒト肝癌細胞HepG2 (約 $1\times 10^9$  cells) を $10\text{ml}$ 氷冷緩衝液 [ $100\text{mM}$ リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4)、 $30\text{mM}$ ニコチンアミド、 $2.5\text{mM}$ の $\text{MgCl}_2$ ] に懸濁後、超音波処理 (30秒間、2回) によって細胞を破砕する。得られたソニケートより、実験例1と同様の操作によってミクロソーム画分を得る。これを氷冷 $100\text{mM}$ リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) に懸濁 (蛋白濃度約 $4\text{mg}/\text{ml}$ ) し、これを酵素液とした。その結果を示す。

【0042】

【表1】

	ラット酵素 $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	ヒトhepG2酵素 $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
実施例1 I	43% <sup>1)</sup>	
II	0.026	0.011
2 I	7.7	
II	0.017	0.011
3 I	15.8% <sup>1)</sup>	
II	0.022	0.0086
8	0.029	0.019
9	0.041	0.022
参考例1	0.067	0.020

1)  $10^{-3}\text{M}$ での阻害率。

#### 【0043】製剤例

本発明の式 (I) で表わされる光学活性な4, 1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有してなるスクアレン合成酵素阻害剤は、例えば、高コレステロール血症の治療剤として使用する場合、次のような処方によって製造することができる。

1. カプセル剤	
(1) 実施例5で得られた化合物	10mg
(2) ラクトース	90mg
(3) 微結晶セルロース	70mg
(4) ステアリン酸マグネシウム	10mg
50 1カプセル	180mg

27

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)を加えて全体をゼラチンカプセルに封入する。

## 2. 錠 剤

(1)実施例5で得られた化合物	10mg
(2)ラクトース	35mg
(3)コーンスターチ	150mg
(4)微結晶セルロース	30mg
(5)ステアリン酸マグネシウム	5mg

1錠 230mg

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の2/3及び(5)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)及び(5)をこの顆粒に加えて錠剤に加圧成型する。

## 【0044】 3. カプセル剤

(1)実施例9で得られた化合物	10mg
(2)ラクトース	90mg
(3)微結晶セルロース	70mg
(4)ステアリン酸マグネシウム	10mg

1カプセル 180mg

28

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)を加えて全体をゼラチンカプセルに封入する。

## 2. 錠 剤

(1)実施例9で得られた化合物	10mg
(2)ラクトース	35mg
(3)コーンスターチ	150mg
(4)微結晶セルロース	30mg
(5)ステアリン酸マグネシウム	5mg

1錠 230mg

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の2/3及び(5)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)及び(5)をこの顆粒に加えて錠剤に加圧成型する。

## 【0045】

【発明の効果】本発明の式(I)で表わされる光学活性な4,1-ベンゾオキサゼピン-2-オン誘導体又はその塩を有効成分として含有するスクアレン合成酵素阻害剤は、高コレステロール血症などの治療に有用である。

---

フロントページの続き

(51)Int. Cl. <sup>6</sup>

識別記号

庁内整理番号

FI

技術表示箇所

// C 0 7 M 7:00